

Umi Atiqoh. 2016. Pengaruh Lama Waktu Inkubasi Terhadap Fusi Protoplas Mesofil Daun Anggrek *Dendrobium sylvanum* Rchb.f and *Dendrobium lasianthera* J.J.Sm. Tesis ini di bawah bimbingan Dr. Edy Setiti Wida Utami, MS dan Dr. Y. Wulan Manuhara, M.Si. Program Magister Biologi, Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Airlangga, Surabaya.

ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh lama waktu inkubasi pada isolasi dan fusi protoplas *Dendrobium sylvanum* Rchb.f and *Dendrobium lasianthera* J.J.Sm serta pengaruh jenis tanaman terhadap hasil isolasi protoplas. Penelitian ini terdiri atas dua tahap yaitu isolasi dan fusi protoplas. Kedua tahap tersebut merupakan penelitian eksperimental dengan Rancangan Acak Lengkap (RAL). Metode isolasi protoplas menggunakan enzim *cellulase Onozuka R-10* 1%, *macerozyme R-10* 0,2%, dan larutan stabilisator sukrosa 0,5 M untuk merendam 2 gram eksplan selama 1, 3, 5, 7 jam dengan enam kali ulangan. Eksplan diambil dari jaringan mesofil dalam kondisi *in vitro*. Pada tahap dua, fusi protoplas dilakukan secara kimiawi menggunakan PEG 6000 30%. Fusi dilakukan selama 20, 30, 40, dan 50 menit dengan enam kali ulangan untuk melihat pengaruh lama waktu inkubasi terhadap hasil fusi. Hasil isolasi protoplas diuji menggunakan One Way Anova dilanjutkan dengan Duncan Multiple Range Test (DMRT) sedangkan jenis tanaman dan fusi protoplas diuji dengan Kruskal Wallis dilanjutkan dengan uji Mann Whitney. Pada isolasi protoplas, lama waktu inkubasi selama 3 jam dalam larutan enzim dan stabilisator sukrosa masing-masing memberikan jumlah protoplas viabel paling optimum. Jumlah protoplas viabel pada *D. lasianthera* adalah $15,6 \times 10^5$ protoplas/ mL, sedangkan *D. sylvanum* adalah $6,6 \times 10^5$ protoplas/ mL. Waktu inkubasi selama 40 menit memberikan hasil fusi paling baik yaitu 6,4% pada homofusi *D. lasianthera*, 6,6% homofusi *D. sylvanum*, dan 7,4% pada heterofusi sedangkan untuk multifusi mencapai 18,3%. Hasil penelitian menunjukkan jenis tanaman dan perlakuan lama waktu inkubasi berpengaruh terhadap hasil isolasi dan fusi protoplas.

Kata kunci: isolasi protoplas, *Dendrobium sylvanum*, *Dendrobium lasianthera*.

Umi Atiqoh. 2016. Effect of Incubation Periode to Protoplast Fusion Leaves Mesophyll of Orchid *Dendrobium sylvanum* Rchb.f and *Dendrobium lasianthera* J.J.Sm. This thesis was under the guidance of Dr. Edy Setiti Wida Utami, MS and Dr. Y. Wulan Manuhara, M.Si. Magister Biology, Biology Department, Science and Technology Faculty, Airlangga University, Surabaya.

ABSTRACT

The purpose of this research to determine the influence of plant type and incubation periode of protoplast isolation and fusion of *Dendrobium sylvanum* Rchb.f and *Dendrobium lasianthera* J.J.Sm. This research had two phases were protoplast isolation and fusion. This was an experimental research used a complete randomized block design. The methode of protoplast isolation was used *cellulase Onozuka R-10* 1%, *macerozyme R-10* 0,2%, and sucrose 0,5 M as stabilizer solution to soak 2 gram of explants in 1, 3, 5, 7 hours with six replications. Mesophyll tissue explants were taken from *in vitro* condition. In the second phase, protoplast fusion was used *polyethylene glycol* (PEG) 6000 30% in 20, 30, 40, and 50 minutes with six replications to determine the influence of incubation periode to protoplast fusion. Protoplast isolation was tested by using One Way Anova and Duncan Multiple Range Test (DMRT) while kind of plant and protoplast fusion using Kruskal Wallis and Mann Whitney. In protoplast isolation, incubation periode during 3 hours in enzyme and sucrose osmoticum solution gave the best yield of viable protoplast. Total of viable protoplast of *D. lasianthera* was $15,6 \times 10^5$ protoplas/ mL and *D. sylvanum* was $6,6 \times 10^5$ protoplas/ mL. Protoplast fusion showed 40 minutes gave the best result of fusion 6,4% in homofusion of *D. lasianthera*, 6,6% homofusion of *D. sylvanum*, 7,4% to heterofusion, and 18,3% to multifusion. This research showed the effect of plant type and incubation periode had significant influence to protoplast isolation and fusion.

Key words: protoplast isolation, *Dendrobium sylvanum*, *Dendrobium lasianthera*.